

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Vypracováno na: Farmaceutické fakultě, Univerzitě v Portu

Kandidátka: Tereza Pelikánová

Školitelé: Maria da Glória Correia da Silva Queiroz, PhD

PharmDr. Marie Vopršalová, CSc.

Název diplomové práce: **Purinergní modulace uvolňování noradrenalinu vyvolané NMDA v mozkové kůře potkana**

ABSTRAKT

V mozkové kůře potkanů může být spuštěno uvolnění noradrenalinu (NA) aktivací neuronů projikovaných z locus coeruleus a lokálně uvolněným glutamátem. ATP uvolněný z astrocytů působí na P2 receptory a moduluje noradrenergní a glutamátergní transmissi a neurogliovou signalizaci v těchto synapsích. Ukázalo se, že modulace kortikálních kanálů NMDA-receptorů je řízena receptorovým podtypem P2Y1, ale podtypy purinergních receptorů zapojených do modulace uvolňování NA zůstávají neznámé. Cílem této studie bylo identifikovat purinergní receptory podílející se na modulaci vyplavování NA vyvolané aktivací NMDA receptorů v mozkové kůře potkana. Řezy byly inkubovány 0,1 mM [^3H]-NA po dobu 15 minut, poté promývány pufrům bez Mg^{2+} a po 2 časová období (S_1 a S_2) stimulovány 30 μM NMDA aplikovaným po dobu 2 minut s intervalem 45 minut mezi stimulacemi. Během promývání byly po 5 minutách odebrány vzorky kapaliny k posouzení uvolnění tritia, které bylo použito jako indikátor vyplavení NA. NMDA způsobil nárůst vyplavení NA, které je závislé na NMDA-receptorech. K vyplavení NA vyvolaném aktivací NMDA nedošlo, jestliže bylo v pufru přítomno 1.2 mM Mg^{2+} , které blokuje kanály NMDA-receptorů. Adenylové nukleotidy ATP, ADP a ADP βS , všechny testovány v 0,1mM koncentraci, inhibovaly vyplavení NA z 38%. Tento efekt byl částečně zmírněn selektivním antagonistou adenosinových A_1 receptorů DPCPX (0,1 μM). Ani DPCPX, ani neselektivní antagonist P2 receptorů PPADS či RB2 nezměnili vyplavování NA. Selektivní agonista adenosinových A_1 receptorů CPA (1 μM) a selektivní agonista adenosinových $\text{A}_{2\text{A}}$ receptorů CGS 21680 (0,1 μM) inhibovali vyplavení NA vyvolané NMDA z 44%. Inhibiční účinek CPA a CGS 21680 byl zrušen příslušnými selektivními antagonisty DPCPX (30 nM) a SCH 58261 (30 nM). Pyrimidinové nukleotidy UTP a UDP (0,1mM) inhibovaly vyplavení NA vyvolané NMDA z 33%. Účinky obou

agonistů byly antagonizovány selektivním P2Y₆ antagonistou MRS 2578 (3μM). Výsledky ukazují, že v kortikálních řezech mozku je vyplavení NA vyvolané NMDA modulováno aktivací inhibičních adenosinových receptorů A₁ a A_{2A}. Navíc všechny testované nukleotidy potlačily vyplavení NA vyvolané NMDA. Účinek UTP a UDP je zprostředkován aktivací P2Y₆, zatímco efekt adenylových nukleotidů je zprostředkován A₁ receptory a P2Y receptory, které mohou náležet do podtypu P2Y_{1,12,13}.